

VU Research Portal

Impacts of neonicotinoids to soil invertebrates

de Lima e Silva, C.L.S.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

de Lima e Silva, C. L. S. (2020). *Impacts of neonicotinoids to soil invertebrates*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting

Neonicotinoïden werden in het begin van de jaren 1990 geïntroduceerd; ze hadden twee belangrijke kenmerken: lage toxiciteit voor zoogdieren en hoge werkzaamheid vergeleken met eerdere insecticiden (carbamaten en pyrethroïden). Niettemin werden vier jaar later de eerste tekenen van toxiciteit voor niet-doelwitorganismen waargenomen en in 2013 werd het gebruik van de neonicotinoïden thiamethoxam, imidacloprid en clothianidin (alle drie N-nitroguaniden) in Europa beperkt.

Vanwege de lange halfwaardetijd en het accumulatievermogen van N-nitroguanidinen is er een aanwijzing dat deze verbindingen een groot risico betekenen voor bodemvertebraten, dieren die een grote soortengroep vormen, verschillende ecologische niches bekleden en met ecosysteemdiensten bijdragen aan de bodemgezondheid. Aangezien tot 98% van het insecticide na toepassing in de bodem achterblijft worden bodemvertebraten direct met blootstelling bedreigd.

Resultaten gepresenteerd in de wetenschappelijke literatuur geven aan dat neonicotinoïden giftig zijn voor regenwormen, maar de gegevens vertonen een grote variatie afhankelijk van het type bodem dat gebruikt werd en allerlei verschillen in de testmethodiek. Al deze zaken bij elkaar genomen maken het moeilijk om de toxiciteit en het risico dat deze stoffen vormen voor bodemdieren te beoordelen, waardoor een kenniskloof in de wetenschappelijke literatuur aanwezig blijft.

Om daar in te voorzien stelt dit proefschrift zich tot doel om drie onderzoeksvragen te beantwoorden: (i) Zijn neonicotinoïden giftig voor bodemvertebraten?; (ii) Zijn er verschillen in gevoeligheid onder de geteste ongewervelde bodemdieren?; (iii) Is er een verschil in giftigheid tussen commerciële formuleringen en de zuivere stoffen?

In Hoofdstuk 2 stelde ik me ten doel om de vraag te beantwoorden: “(i) Zijn neonicotinoïden giftig voor bodemvertebraten?” Daartoe onderzocht ik de toxiciteit van imidacloprid en thiacloprid, gedoseerd als zuivere stoffen, voor vijf verschillende soorten: regenwormen (*Eisenia andrei*), potwormen (*Enchytraeus crypticus*), springstaarten (*Folsomia candida*), oribatide mijten (*Oppia nitens*) en pissebedden (*Porcellio scaber*). De resultaten lieten zien dat behalve de hoge gevoeligheid van springstaarten, die verwacht werd omdat ze nauw verwant zijn aan insecten, ook regenwormen zeer gevoelig waren, vergeleken met enchytraeën en isopoden. De oribatide mijten waren het minst gevoelig. Voor de meeste soorten en voor beide eindpunten (adulte overleving en reproductie) was imidacloprid giftiger dan thiacloprid. Soorten uit dezelfde taxonomische groep (Annelida of

Arthropoda) waren verschillend gevoelig voor hetzelfde neonicotinoïde, wat duidt op soortafhankelijke gevoeligheid.

Bij toepassing als zaadbehandeling blijft ongeveer 80-98% van het neonicotinoïde achter in de bodem; de rest worden opgenomen door de plant, wat aangeeft dat imidacloprid, thiamethoxam en clothianidin in potentie accumuleren in de bodem als ze meer dan eenmaal per jaar worden toegepast. Dit roept de vraag op naar blootstelling op lange termijn. Om dat te beoordelen werd in Hoofdstuk 3 *Folsomia candida* gedurende drie generaties blootgesteld aan imidacloprid en thiacloprid, in een natuurlijke bodem (LUFA 2.2) die slechts eenmaal werd gedoseerd en vanaf dag 1 gebruikt werd om de opeenvolgende generaties bloot te stellen. De resultaten lieten zien dat vanwege de snelle degradatie (halfwaardetijd ~10 dagen) thiacloprid de latere generatie niet negatief beïnvloedde, terwijl de toxiciteit van imidacloprid (halfwaardetijd ~ 125 dagen) gedurende de gehele blootstelling hoog was.

In Hoofdstuk 4 stelde ik mezelf tot doel om na te gaan of (i) thiamethoxam even giftig is als imidacloprid aangezien ze beide behoren tot de groep van de N-nitroguanidinen; (ii) om de effecten van deze verbinding op drie generaties van *F. candida* vast te stellen, waarbij de bodem voor elke generatie opnieuw gedoseerd werd en tenslotte, (iii) om de giftigheid van de zuivere stof te vergelijken met die van de commerciële formulering Actara®. De resultaten lieten zien dat bij dosering in zuivere vorm thiamethoxam voor zowel overleving als reproductie van de oudergeneratie (P) dezelfde giftigheid had als bij dosering als Actara®. Thiamethoxam was voor de adulte overleving iets giftiger dan imidacloprid, ondanks dat de twee stoffen tot dezelfde chemische familie behoren. Vanwege de hoge toxiciteit voor adulte overleving van de oudergeneratie werden er geen juvenielen geproduceerd dus de toxiciteit voor de volgende generaties (F1 en F2) kon niet beoordeeld worden. Bij een vergelijking van PEC-waarden (0,063–0,23 mg werkzame stof per kg bodem) met de EC₁₀-waarden uit de experimenten werd duidelijk dat bodemvertebraten al kans lopen sublethale effecten te ondervinden bij toepassing van slechts één behandeling met Actara® per jaar.

In navolging van de resultaten van Hoofdstuk 4, stelde ik me tot doel om na te gaan of de volgende neonicotinoïden zouden verschillen in hun effecten op *F. candida* en *E. andrei* als ze werden toegepast als zuivere stof, of als commerciële formulering: imidacloprid en Confidor®; thiamethoxam en Actara®; thiacloprid en Calypso®; acetamiprid en Mospilan®. Clothianidin werd alleen als zuivere stof getest. Bij de testen met beide soorten en bij beide eindpunten was er geen verschil in de giftigheid van de neonicotinoïden gedoseerd als zuivere stof of als commerciële formulering. Uitzonderingen waren acetamiprid en imidacloprid in de testen met *F. candida*, waarbij acetamiprid viermaal toxischer was voor

voor overleving en imidacloprid viermaal toxischer voor reproductie dan respectievelijk Mospilan® en Confidor®.

In het algemeen hebben neonicotinoïden behorend tot de chemische familie van N-nitroguanidinen een vergelijkbare halfwaardetijd en vergelijkbare giftigheid voor elk van de onderzochte soorten. Echter, verbindingen die behoren tot de N-cyanoamidines hadden een veel hogere giftigheid, waarbij acetamiprid bij *E. andrei* een factor tien giftiger was ten aanzien van adulte overleving, vergeleken met thiacloprid en een factor 40 giftiger bij *F. candida*. De giftigste verbinding voor regenwormen was acetamiprid, terwijl clothianidin het giftigst was voor *F. candida*. Geschatte risicoquotiënten gaven aan dat één toepassing van clothianidin per jaar de springstaarten- en regenwormenpopulaties in het veld al kan bedreigen.

De resultaten verkregen in Hoofdstuk 2 gaven aanleiding tot vragen over de verschillen in gevoeligheid tussen soorten van dezelfde taxonomische groep maar met verschillende levenscycli. Het modelorganisme *F. candida* reproduceert parthenogenetisch, terwijl vele andere soorten seksueel zijn. Daarom werd in Hoofdstuk 6 de OECD-richtlijn 232 voor de beoordeling van giftigheid van chemicaliën voor de reproductie van collembolen aangepast om drie vragen te beantwoorden: (i) Hoe representatief is het modelorganisme *F. candida* voor springstaartsoorten die zich seksueel voortplanten? (ii) Hoe geschikt zijn andere springstaartsoorten als organismen in ecotoxicologische testen? (iii) Is het mogelijk om de levenscyclus van deze soorten te extrapoleren naar de invloed van neonicotinoïden op populatieniveau?

Vier soorten springstaarten werden blootgesteld aan imidacloprid en thiacloprid als zuivere stoffen: *F. candida*, *Folsomia fimetaria*, *Heteromurus nitidus* en *Sinella curviseta*. De commerciële formuleringen Confidor® (imidacloprid) en Calypso® (thiacloprid) werden alleen getest op *S. curviseta*. Voor beide neonicotinoïden waren *F. candida* en *F. fimetaria* de gevoeligste springstaartsoorten. Volwassen *S. curviseta* vertoonden binnen het onderzochte concentratiebereik geen gevoeligheid voor beide verbindingen. Echter de reproductie (EC₅₀) van deze soort was bij imidacloprid minstens honderdmaal gevoeliger dan de adulte overleving en minstens twintig maal in het geval van thiacloprid. De toxiciteit van imidacloprid voor reproductie van de vier soorten lag tussen 0,1 en 0,5 mg werkzame stof per kg droge bodem en voor thiacloprid tussen 1,5 en 2,0 mg/kg, wat aangeeft dat het verschil in voortplanting (parthenogenese bij *F. candida* en seksuele voortplanting bij *F. fimetaria*) de gevoeligheid van de reproductie voor neonicotinoïden niet beïnvloedt.

De intrinsieke populatiegroeisnelheid (*r*), berekend uit de reproductietoxiciteitstesten met de verschillende springstaartsoorten laat zien dat populaties van de onderzochte soorten verschillend reageerden; de meeste vertoonden een verminderde groeisnelheid bij blootstelling aan concentraties boven hun EC₅₀, behalve bij *F. candida*.

Het onderzoek bevestigde dat *F. candida* een goede modelsoort is, ondanks dat het de gevoeligste soort is van alle onderzochte springstaarten. De resultaten van Hoofdstuk 6 lieten ook zien dat de toxiciteitstesten met deze soort ingekort kunnen worden, van de voorgeschreven 28 dagen naar blootstelling gedurende 21 dagen, als de proef gestart wordt met adulten van 20-22 dagen oud in plaats van met juvenielen van 10-12 dagen oud. Twee soorten worden gesuggereerd als aanvullende modelorganismen bij de uitvoering van toxiciteitstesten: *S. curviseta* en *H. nitidus*, die ingezet kunnen worden als een seksueel reproducerend alternatief voor *F. candida*.

In Hoofdstuk 7 worden de vragen van Hoofdstuk 1 beantwoord:

1. Zijn neonicotinoïden giftig voor ongewervelde dieren in de bodem?

Inderdaad zijn neonicotinoïden van de familie N-nitroguanidinen (imidacloprid, thiamethoxam en clothianidin) zeer giftig, zowel voor de reproductie als voor de adulte overleving van bodemvertebraten. Acht soorten werden in LUFA 2.2.-bodem blootgesteld aan imidacloprid en thiacloprid, waarbij de twee verbindingen een verschillende toxiciteit voor de soorten en de eindpunten lieten zien, wat een soort-afhankelijke gevoeligheid suggereert. Niettemin was imidacloprid giftiger dan thiacloprid voor beide eindpunten. *Oppia nitens* was de minst gevoelige soort voor beide verbindingen; *F. candida* was het gevoeligst. Afgaande op de resultaten van de risicobeoordeling lopen bodemvertebraten in het veld al bij één toepassing per jaar de kans blootgesteld te worden aan sublethale concentraties van imidacloprid en clothianidin.

2. Is er een verschil in gevoeligheid tussen de onderzochte soorten?

De resultaten van dit proefschrift demonstreren duidelijk een verschil in gevoeligheid tussen de geteste soorten, waarbij *F. candida* en *F. fimetaria* het gevoeligst zijn en *Oppia nitens* het minst gevoelig. Hoewel *E. andrei* niet tot de Arthropoda behoort bleek deze regenworm even gevoelig te zijn als *F. candida*. In een vergelijking van de gevoeligheid van soorten die tot verschillende families van de springstaarten behoren (Entomobryidae en Isotomidae) was de respons van het eindpunt adulte overleving soort-afhankelijk terwijl het eindpunt reproductie vergelijkbaar reageerde.

3. Is er een verschil in toxiciteit tussen commerciële formuleringen en zuivere stoffen?

De zuivere werkzame bestanddelen vertoonden een vergelijkbare toxiciteit als hun commerciële formuleringen, met een paar uitzonderingen bij *F. candida*. In zuivere vorm was acetamiprid giftiger voor overleving en imidacloprid was giftiger voor reproductie, vergeleken met de commerciële formuleringen, respectievelijk Mospilan® en Confidor®. Dit laat zien dat de toxiciteit van het insecticide hoofdzakelijk door de werkzame stof veroorzaakt wordt en dat andere ingrediënten, zoals oppervlakte-actieve stoffen en oliën, inert zijn. Aan de andere kant laat het ook zien dat deze verbindingen zeer giftig zijn voor ongewervelde bodemdieren, ook wanneer ze als commerciële formulering toegepast worden.

Dit proefschrift toont aan dat neonicotinoïden een groot risico vormen voor ongewervelde dieren in het veld, vanwege hun hoge toxiciteit en lange verblijftijd. Ondanks alle inspanningen van de Europese Unie om de biodiversiteit te beschermen en zaadbehandeling bij vollegrondstoepassingen in 2018 te beëindigen zal de invloed van deze insecticiden op het milieu nog voor enkele jaren doorwerken. Er is geen eenvoudige oplossing voor, het is een ingewikkeld probleem met verschillende kanten, zoals giftigheid voor verschillende soorten, populaties en gemeenschappen van bodemdieren en de mogelijke invloed op ecologische interactie en ecosysteemdiensten. Met preventieve actie, gebaseerd op duidelijke beschermingsdoelen, kunnen we de negatieve invloed van de nog overgebleven insecticiden vermijden of reduceren, terwijl tegelijkertijd voorkomen moet worden dat meer chemicaliën worden toegevoegd aan de lijst van nalatenschapsverbindingen.